

LES CHARACÉES : DES MODÈLES BIOLOGIQUES REMARQUABLES¹

Georges DUCREUX*

RÉSUMÉ. — Tout ■ présentant une organisation morphologique complexe permettant la référence aux plantes supérieures, l'appareil végétatif et reproducteur des Charophycées est réalisé sur la base d'une structure cellulaire simple, dont la filiation résulte d'une ontogenèse rigoureuse, et qui est caractérisée par deux lignées cellulaires : nodale et internodale. Plantes bien étudiées au plan systématique, génétique, cytologique et cultivables ■ conditions axéniques, elles permettent des investigations expérimentales, au moyen des techniques les plus modernes, dans les domaines de la biologie du développement et de la biologie cellulaire. Sur la base de travaux récents quelques exemples sont donnés dans les domaines : du contrôle corrélatif du développement, de la cytomorphogenèse et de la caractérisation des lignées cellulaires constitutives de la plante. Les Charophycées sont des modèles remarquables pour la compréhension des mécanismes cellulaires impliqués dans le développement de l'organisme végétal.

ABSTRACT. — Although Charophyceae present ■ complex morphological organization, which provides a basis for comparison with higher plants, their vegetative and reproductive apparatus is based on ■ simple cellular structure resulting from ■ strict ontogenesis and characterized by two cellular lines : nodal and internodal. These plants have been well studied at the systematic, genetic and cytological levels and can be cultivated in axenic conditions, thus allowing investigation by the latest experimental techniques in the fields of developmental and cellular biology. On the basis of some recent works, several examples are offered in the following domains : correlative control of development, cytomorphogenesis and characterization of cellular lines constitutive of the plant. Charophyceae are remarkable models for ■ better understanding of the cellular mechanisms implicated in the development of a plant organism.

MOTS CLÉS : *Chara*, corrélations, cultures axéniques, électrophorèse, génétique, lignées cellulaires, *Nitella*, ontogenèse, polarité, protoplastes, synchronisation.

1. Communication présentée le 31 mai 1984 au Colloque de la Société Phycologique de France à Angers.

* Laboratoire d'Étude et d'Exploitation du Polymorphisme Végétal associé au C.N.R.S., Bât. 360 - Faculté des Sciences - 91405 Orsay Cedex.

Des plantes qui existent depuis 350 millions d'années ! C'est une première originalité du groupe des Charophytes dont les premiers représentants indubitables sont reconnus du Silurien (GRAMBAST, 1974) et dont les derniers peuplent encore certaines de nos collections d'eau douce.

Ces plantes relativement fragiles n'auraient pu laisser aucune trace paléontologique. Un appareil reproducteur original et évolué dont la partie femelle, en raison de sa calcification, a été facilement fossilisée, a permis des études phylogénétiques (GRAMBAST, 1974) ou paléostratigraphiques extrêmement précises. Déjà des modèles dans ce domaine. Une autre originalité réside dans la complexité de leur organisation aussi bien au niveau de l'appareil végétatif que de l'appareil reproducteur qui ont conduit à des discussions sur leur position systématique (CORILLION, 1975). L'ensemble des arguments paléontologiques, (GRAMBAST, 1974), morphologiques (GROVES et BULLOCK-WEBSTER, 1920; SUNDARALINGAM, 1960), morphogénétiques (DUCREUX, 1975) et cytologiques (PICKETT-HEAPS, 1975) vont dans le sens de la création d'un embranchement situé en position intermédiaire entre les Eulichlorophycées et les Bryophytes (CHADEFAUD, 1960).

Malgré la réduction actuelle des Charophytes à la seule famille des Characées comprenant seulement 6 genres, leur importance demeure au plan écologique, systématique et phytosociologique. Nous n'insisterons pas sur ces aspects qui seront développés par d'autres intervenants beaucoup plus qualifiés. Nous resterons dans le domaine de la biologie du développement en essayant de montrer les avantages présentés par les Characées et de situer, dans leurs grandes lignes, les travaux et les orientations actuelles.

1. — INTÉRÊTS EXPÉRIMENTAUX PRÉSENTÉS PAR LES CHARACÉES

1 - Une taxonomie précise et une génétique possible.

C'est un premier avantage non négligeable que de situer exactement le matériel utilisé expérimentalement; nous verrons que même pour des études au niveau cellulaire, cet élément garde son importance. Or, il existe peu de groupes chez les plantes dites inférieures qui soient aussi bien connus que celui des Characées au plan systématique et caryotypique. Je citerai pour mémoire les travaux de WOOD et IMAHORI, 1965; CORILLION, 1957; GUERLESQUIN, 1967.

Il existe encore moins de groupes (si on excepte les unicellulaires) qui permettent chez les algues, ou les unités systématiques proches, une génétique expérimentale. En particulier en raison de la difficulté d'obtenir, pour des croisements contrôlés, une castration correcte des plantes. Cela est possible avec les Characées, soit par des moyens physiques, soit par irradiation aux rayons gamma (Mc CRACKEN et al., 1966; PROCTOR, 1974) et du fait que certaines espèces sont dioïques. Il existe de plus des marqueurs morphologiques

précis permettant de repérer les hybrides. Sur ces bases, PROCTOR (1975) a pu conduire de remarquables travaux sur la spéciation des Charophycées. Une analyse génétique de certains mécanismes de la biologie du développement de la plante est donc envisageable.

Un petit problème cependant : si de nombreux auteurs s'accordent, sur la base d'observations cytologiques et cytophotométriques, pour considérer que les Characées sont des plantes haploïdes et que la méiose intervient à la germination du zygote, les chromosomes méiotiques n'ont jamais été observés avec certitude (GUERLESQUIN et NOOR, 1982).

2 - Une organisation morphologique élaborée.

La plante (Fig. 1) possède un axe principal dressé, terminé par un bourgeon où se situe la zone de croissance. Cet axe est constitué de l'alternance : de nœuds au niveau desquels sont situés des verticilles de rameaux, à croissance limitée, porteurs des organes reproducteurs, et d'entre-nœuds. Au niveau de l'un des rameaux de chaque verticille on observe, en position axillaire, un bourgeon qui reste latent dans les conditions normales de croissance mais peut assurer un relai en cas de rupture accidentelle de l'axe ou de bouturage. L'organisation des rameaux à croissance limitée, la cortication et ses dépendances, la situation et la structure des organes reproducteurs sont autant de marqueurs morphologiques qui permettent une systématique précise (CORILLION, 1975). La fixation de la plante est assurée par des rhizoïdes de structure complexe qui peuvent assurer une multiplication végétative (DUCREUX, 1975).

La nomenclature morphologique descriptive des Characées est complexe (CORILLION, 1975) mais si on la conçoit dans un cadre plus phylogénétique on peut faire l'analogie avec le cladome des algues défini par CHADEFAUD (1952, 1979) ou avec certaines plantes supérieures à rameaux végétatifs dimorphes (DUCREUX, 1975).

3 - Une organisation cellulaire programmée.

Nous n'indiquerons que certains points essentiels, l'analyse détaillée de la structure cellulaire de la plante et de son ontogenèse ayant été développée dans des travaux antérieurs (DUCREUX, 1975, 1977, 1979).

L'analyse du mode de croissance de l'appareil végétatif de *Chara* montre que les premières divisions intervenant au niveau de l'apex sont déterminantes pour la morphogenèse de la plante (Fig. 2).

Le développement est assuré par la division régulière de la cellule apicale, mais l'originalité du fonctionnement de l'apex réside dans le comportement de la cellule sous-apicale ainsi produite. Cette cellule se segmente en effet transversalement pour donner deux cellules filles dont les potentialités morphogénétiques, respectivement nodale et internodale, sont immédiatement et totalement différentes (Fig. 2).

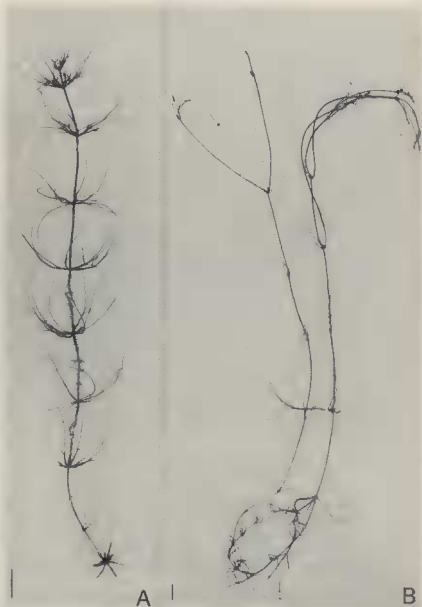


Fig. 1. — Morphologie d'ensemble (Plantes cultivées *in vitro*; échelle 1 cm). A : *Chara vulgaris* L. B : *Nitella translucens* (Pers.) Agardh.

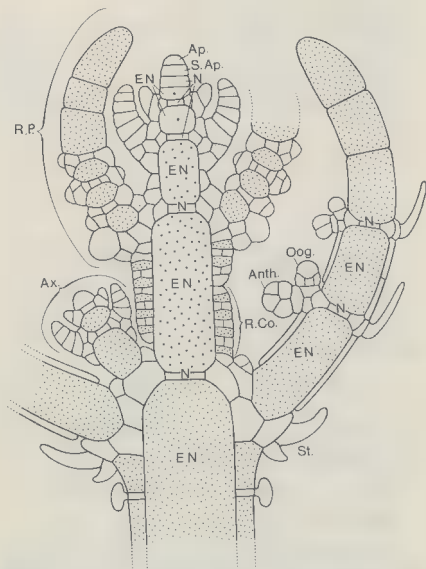


Fig. 2. — Coupe longitudinale axiale schématique du bourgeon terminal de *Chara*. Dans les parties dont l'ontogenèse est achevée, les articles internodaux sont indiqués en pointillé. — Anth. : anthéridie; Ap. : apicale; Ax. : bourgeon axillaire; E.N. : article internodal; N. : nœud; Oog. : oogone; R.Co. : rameau corticant; R.P. : rameau pleuridien; St. : stipulode.

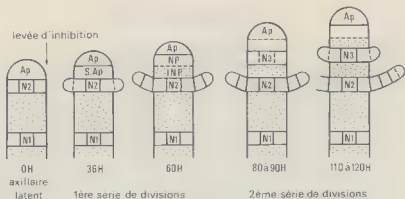
La cellule internodale ne se cloisonne plus ultérieurement et se transforme en un long article coenocytique qui est masqué par la cortication chez certains *Chara* et reste dénudé chez d'autres ainsi que chez *Nitella* (Fig. 1). Cette particularité a été exploitée expérimentalement d'autant plus que l'article peut atteindre une très grande taille (plusieurs cm). La cellule nodale en revanche, au terme d'une segmentation complexe, est à l'origine des rameaux verticillés à croissance limitée. Le nœud produit également le bourgeon axillaire. Malgré une certaine complexité morphologique déjà soulignée les différents organes de la plante sont constitués d'un nombre relativement réduit de cellules dont la filiation peut être suivie du fait d'une ontogenèse rigoureuse (DUCREUX, 1975). Cette situation est évidemment favorable à la recherche d'informations concernant la modification, au cours de l'ontogenèse ou sous l'influence de l'expérimentation, du programme morphogénétique de cellules jouant un rôle bien déterminé dans la construction de la plante. De plus, le développement s'organise à tous les niveaux autour de deux lignées cellulaires : nodale et internodale, bien caractérisées (Fig. 2).

Mais il y a plus : l'organisation cellulaire est non seulement programmée, elle est programmable dans le temps. On peut en donner pour preuve la maîtrise du fonctionnement du bourgeon axillaire. Ces bourgeons, une fois leur ontogenèse achevée, restent à l'état latent et présentent tous une organisation cellulaire identique. La levée expérimentale des corrélations d'inhibition s'exerçant à leur niveau permet une synchronisation des premières étapes de leur développement (DUCREUX, 1979). Il est donc possible d'analyser de façon dynamique le fonctionnement de l'apex et l'ontogenèse des organes latéraux. On peut également intervenir expérimentalement à des stades précis (Fig. 3).

On peut trouver des situations tout aussi intéressantes au niveau des organes reproducteurs, plus particulièrement des organes mâles. Leur ontogenèse est complexe mais la mise en place des filaments spermatogènes suit un modèle remarquable bien étudié par DELAY et CARPENTIER (1955). Ces filaments peuvent comprendre jusqu'à 128 cellules. Leur constitution à partir d'une cellule initiale se fait par des divisions synchrones de sorte, qu'à un moment donné, on peut disposer au niveau d'un même filament de noyaux à la même phase du cycle nucléaire. Cette même particularité a favorisé l'analyse de la cytologie de la spermiogenèse (PICKETT-HEAPS, 1968 a et b; MOESTRUP, 1970).

4 - Une accessibilité aux techniques expérimentales modernes.

— Cultures axéniques : c'est un problème qui limite souvent l'expérimentation chez les algues. Les travaux de FORSBERG (1965a et b) ont montré qu'il était possible d'axéniser et d'obtenir un développement normal de *Chara* en culture *in vitro*. L'intérêt de cette méthode de culture est manifeste à double titre puisqu'elle permet un contrôle strict des conditions écologiques et une multiplication végétative active (possibilité d'obtenir 100 plantes par an à partir d'une germination) conduisant à la constitution de clones.

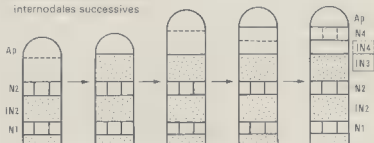


A - Fonctionnement normal

CENTRIFUGATION MENAGÉE EN COURS DE MITOSE S_s APICALE

B - Fonctionnement après centrifugation

a - mise en place de 2 cellules internodales successives



b - ou mise en place de 3 cellules internodales successives

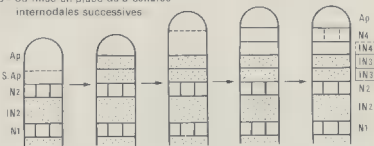


Fig. 3. - A : Principales étapes du développement des bourgeons axillaires après levée des corrélations d'inhibition (temps exprimés en heures à partir de l'intervention expérimentale). - B : Interprétation des anomalies de fonctionnement: constatées après centrifugation ménagée en cours de mitose de la cellule sous-apicale (d'après DUCREUX, 1975). - Ap. : apicale; INP. : cellule internodale primordiale; NP. : cellule nodale primordiale; N et IN. : cellules nodales et internodales numérotées en fonction de leur origine ontogénique.

A. Méthodes de stérilisation.

1. D'après FORSBERG (1965b):

Alcool 70% - 1 à 2 minutes
 Hypochlorite de calcium 7% - 20-25 mm
 Plusieurs rinçages dans l'eau distillée stérile.

2. D'après DUCREUX :

Acide acétique 0,5 N - 1 minute
 Hypochlorite de calcium 5% - 3mm
 3 rinçages successifs dans l'eau distillée stérile.

B. Milieu de culture (d'après FORSBERG (1965a):

$C_8H_{18}NO_5$	0,08 g	Zn (as chloride)	0,1 mg
$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$	0,10 g	Mn "	2 µg
Na_2CO_3	0,02 g	Co "	2 µg
K_2SiO_3	0,01 g	Cu "	4 µg
KCl	0,03 g	B (H_3BO_3)	0,4 mg
K_2HPO_4	0,56 mg	Mo (Na-salt)	0,1 mg
Fe (as chloride)	0,4 mg		
NTA (=nitrilo triacetic acid)			20 µg
TRIS (tris-(hydroxymethyl)-aminometan)			0,5 g
pH adjusted to 7.0 by 1 N HCl.			
(Concentrations pour 1 l)			

Tableau 1. — Obtention de cultures axéniques. A : Méthodes de stérilisation. B : Milieu de culture.

L'axénisation des souches est favorisée par la résistance de la paroi et permet divers traitements de stérilisation (Tableau 1). Nous n'avons pas multiplié les essais mais nous avons réussi à obtenir la culture et la fructification, dans ces conditions, de plusieurs espèces de *Chara* et plus récemment de *Nitella* (Tableau 2). Les échecs relèvent principalement de l'état du matériel récolté et de la difficulté, dans certains cas, de lever la dormance (PROCTOR, 1960).

Chara aspera Deth. ex Willd.
Chara polyacantha A. Br.
Chara vulgaris L.*
Nitella mucronata (A. Br.) Miquel.
Nitella tenuissima (Desv.) Kutz.
*Nitella translucens** (Pers.) Agardh.

Tableau 2. — Espèces de Characées obtenues en culture axénique.

* Espèces actuellement en culture.

— **Cytologie et cytochimie** : les Characées se prêtent bien également aux études cytologiques en particulier ultrastructurales. Elles ont donné lieu à de nombreux travaux qui ont permis de préciser l'évolution des cellules au cours de l'ontogenèse des différents organes (PICKETT-HEAPS, 1967 a et b, 1968 a et b; DUCREUX, 1968, 1979), la position phylogénétique des Characées (PICKETT-HEAPS, 1975), ou qui ont servi de support à des études de physiologie cellulaire (CRAWLEY, 1965; NAGAI et REBHUN, 1966; FISCHER et al., 1974; FRANCESCHI et LUCAS, 1980, 1981; LUCAS et FRANCESCHI, 1981). D'autres études concernant plus particulièrement l'évolution des filaments spermatogènes et les étapes de la spermiogenèse ont montré la possibilité d'appliquer des méthodes de cytochimie ultrastructurale permettant de caractériser certains constituants nucléaires et de suivre leur évolution (ROBERT, 1979; KWIATKOWSKA et MASZEWSKI, 1979, 1980).

— **Electrophorèse** : il convient de mettre l'accent sur cette technique car malgré une large utilisation dans les analyses de systématique et de génétique des populations elle est peu utilisée chez les algues (HOLTON, 1973), en particulier pluricellulaires. Des difficultés d'adaptation des techniques expérimentales en sont probablement la cause. Les travaux de GRANT et PROCTOR (1980) ont permis de caractériser les phénotypes de différentes espèces et d'avancer des hypothèses sur les mécanismes génétiques de la variation des Characées.

On pourrait envisager de nombreuses autres méthodes expérimentales qui se sont révélées utilisables chez ces plantes en particulier dans le domaine de l'électrophysiologie. Ces quelques exemples montrent que non seulement les Characées peuvent servir de modèles morphologiques et cellulaires mais qu'elles sont accessibles à tout un arsenal de techniques modernes.

II — QUELQUES ORIENTATIONS ACTUELLES, CHEZ LES CHARACÉES, DANS LES ÉTUDES DE BIOLOGIE DU DÉVELOPPEMENT

1 - Au niveau de la plante entière.

L'architecture de la plante favorise une analyse précise des actions corrélatives s'exerçant entre les différents organes. Nous citerons deux exemples. 1) Le premier concerne les actions contrôlant le développement du bourgeon axillaire. Ce bourgeon est maintenu à l'état latent dans les conditions normales de croissance. Cet arrêt de développement implique l'existence de corrélations d'inhibition et relève du phénomène de « dominance apicale » bien connu chez les plantes supérieures. A signaler à ce propos que le rôle des auxines a pu être mis en évidence dans ce phénomène chez *Chara* (LIBBERT et JAHNKE, 1965). Une analyse expérimentale précise par des traumatismes fins réalisés au niveau de l'apex (DUCREUX, 1975) a permis de montrer que les influences inhibitrices s'exercent à partir des cellules initiales de l'apex principal et des

jeunes pleuridies. La simplicité relative et l'uniformité d'organisation du bourgeon axillaire permet d'envisager l'analyse de la séquence des événements consécutifs à la levée d'inhibition, en particulier au niveau de la cellule apicale (DUCREUX, 1977) et d'obtenir des informations sur les mécanismes impliqués.

2) Nous avons également mis en évidence un contrôle de la vitesse d'organogenèse de l'apex par les organes latéraux édifiés (pleuridies, bourgeon axillaire). En fonction du schéma expérimental choisi, on observe une accélération ou un ralentissement du rythme mitotique de la cellule apicale (DUCREUX, 1975). Dans ce dernier cas, on peut même obtenir un arrêt plus ou moins long de son fonctionnement et déclencher ultérieurement la reprise des mitoses. On obtient ainsi, en fonction de la durée du temps de fonctionnement, une morphologie de plus en plus modifiée permettant d'établir des relations entre les phénomènes d'organogenèse et les perturbations subies par la cellule qui en est responsable.

Ces deux exemples révèlent la complexité des actions corrélatives modelant la morphogenèse des différentes parties de l'appareil végétatif et incitent à établir des rapprochements avec les plantes supérieures, mais avec un avantage : il est possible d'étudier la traduction des actions corrélatives au niveau de l'unité cellulaire. De plus, le fait qu'en l'absence de tissus vasculaires les mécanismes impliqués pourraient être les mêmes pour les actions s'exerçant à courte et à longue distance pourrait offrir une voie nouvelle pour la recherche de la nature ou du support des messages corrélatifs.

2 - Cytomorphogenèse et développement.

Il s'agit de travaux concernant essentiellement les cellules initiales de l'apex des axes chlorophylliens (DUCREUX, 1975) ou des rhizoïdes (SIEVERS et SCHNEPF, 1981).

Au niveau de l'apex des axes chlorophylliens ces investigations ont bénéficié de la possibilité de synchronisation du développement des bourgeons axillaires précédemment évoquée ce qui a permis de développer une étude séquentielle du fonctionnement des cellules initiales (DUCREUX, 1979). La caractéristique essentielle de ce fonctionnement est l'existence de remaniements cytoplasmiques qui précèdent les mitoses et conduisent à une distribution polarisée du cytoplasme. La cellule apicale, après une division récente, montre autour d'un noyau volumineux un cytoplasme dense dont les organites, à l'exception des chloroplastes situés à la périphérie, sont uniformément répartis. Dans le temps qui précède une nouvelle mitose des phénomènes de nature autophagique conduisent à la formation de plages vacuolaires contenant des organites cytoplasmiques plus ou moins dégradés, localisées à la base de la cellule. L'apicale en activité est donc caractérisée par une organisation polarisée déterminée par des processus métaboliques actifs précédant l'entrée en mitose qui de ce fait est inégale (DUCREUX, 1977, 1979).

Des phénomènes comparables interviennent au niveau de la cellule sous-apicale dont la division inégale (DUCREUX, 1977) est à l'origine des deux

lignées cellulaires caractérisant l'organisation de la plante (Fig. 2 et 3) : une lignée nodale dont les potentialités morphogénétiques sont plus élevées, et une lignée internodale qui a perdu l'aptitude à la segmentation et donne un long article coenocytique. Des centrifugations réalisées en cours de mitose de la cellule sous-apicale d'apex à fonctionnement synchrone confirment que la distribution polarisée du contenu cellulaire est une étape nécessaire à la réalisation du programme morphogénétique normal (DUCREUX, 1975 et Fig. 3). Mais, l'inégalité de répartition du cytoplasme n'est pas seule en cause; le matériel nucléaire des cellules issues de la mitose est différent quantitativement et qualitativement, en particulier en ce qui concerne la structure du matériel nucléolaire. Nous avons entrepris une étude en cytochimie ultrastructurale, sur la base des techniques utilisées pour localiser les constituants nucléaires au cours de la spermiogénèse (ROBERT, 1979) qui ont permis de montrer l'existence de modifications à un stade très précoce (DUCREUX et ROBERT, non publié). En résumé, on dispose au niveau de l'apex de cellules à fonctionnement bien caractérisé permettant de servir de modèles pour l'analyse de problèmes de cytomorphogénèse et de différenciation cellulaire.

La cellule apicale des rhizoïdes a été également l'objet de nombreuses recherches (SIEVERS et SCHNEPF, 1981). On retrouve l'importance de la distribution polarisée des organites cytoplasmiques (SIEVERS, 1965, 1967) pour le fonctionnement d'une cellule apicale mais dans un contexte différent puisque, dans ce cas, cette même cellule tout en se divisant assure l'allongement rapide du rhizoïde ($180 \mu\text{m h}^{-1}$, SIEVERS, 1965). C'est aussi un modèle intéressant pour l'analyse des mécanismes déterminant la mise en place et le maintien des gradients morphologiques et physiologiques directement liés aux programmes morphogénétiques de la cellule. Mais il existe un autre aspect : ces rhizoïdes, comme les racines des plantes supérieures, possèdent un géotropisme positif. La simplicité du système, une cellule en jeu et le fait que cette cellule soit transparente, a favorisé un suivi cinématographique du phénomène et permis une analyse des mécanismes mis en jeu (SIEVERS et SCHRÖTER, 1971; SIEVERS et VOLKMANN, 1979). Ces études ont pu mettre en évidence le rôle de statolithes dans le déclenchement de la réponse. Le relai est assuré, pour l'expression du phénomène, par une modification de la distribution des organites cytoplasmiques conduisant à une croissance différentielle des parois latérales de la cellule puis à la courbure gravitropique (SIEVERS et SCHNEPF, 1981).

3 - Caractérisation des lignées cellulaires.

L'appareil végétatif des Characées est caractérisé par la mise en place au niveau de l'apex, dès la division de la cellule sous-apicale, de deux lignées cellulaires exprimant des potentialités différentes. L'une de ces lignées (dite nodale car elle est à l'origine des ramifications) conserve la possibilité de donner de nouveaux apex contrairement à l'autre. Cette situation est particulièrement intéressante sur le plan fondamental. On utilise de plus en plus chez les plantes supérieures, dans le cadre des programmes d'amélioration des plantes, les cul-

tures de cellules isolées ou de protoplastes. Or, on ne sait pas si l'isolement d'une cellule lui permet à nouveau d'exprimer l'ensemble de son information héréditaire. On contrôle encore très mal la séquence des événements conduisant de la cellule isolée à la plante. On ne sait pas non plus si le programme de développement d'une cellule isolée est le même que celui du protoplaste correspondant. Toutes ces questions fondamentales de différenciation cellulaire peuvent être envisagées de façon simple chez les Characées puisque schématiquement il n'existe que deux catégories cellulaires parfaitement définies.

Expérimentalement, le problème est plus compliqué en raison de la difficulté de dissocier les deux types de cellules. On peut cependant obtenir l'isolement mécanique d'articles internodaux en utilisant ceux qui sont à l'extrémité des pleuridies. L'expérience a été réalisée chez *Chara* (DUCREUX, non publié). Les articles ainsi isolés se maintiennent en vie pendant plusieurs semaines; ils sont l'objet de modifications internes concernant en particulier la zone cytoplasmique pariétale et l'arrangement des chloroplastes mais ne conduisent pas à la néoformation d'apex. Des résultats différents ont été obtenus par SANDAN (1955, 1958) sur *Nitella flexilis* soit en isolant des articles internodaux de l'axe soit en isolant des portions d'articles à l'aide de ligatures. Dans les deux cas l'auteur observe la néoformation d'axes ou de rhizoïdes. Dans le premier cas l'absence de cellules nodales n'est pas prouvée; dans le second cas, la portion internodale isolée paraît effectivement être en mesure de s'orienter vers une morphogenèse nodale. Nous avons récemment entrepris des expériences comparables avec des articles internodaux de *Nitella translucens* sans obtenir de succès. Ce résultat négatif pourrait être lié soit aux conditions de milieu, soit à un effet génétique. Ce problème est bien connu chez les plantes supérieures où suivant les espèces, ou même les lignées considérées, on constate des aptitudes différentes des cellules isolées à s'engager dans un programme de développement.

Pour réaliser une comparaison des potentialités morphogénétiques des cellules nodales et internodales, nous avons tenté d'obtenir des protoplastes. Cette technique est encore peu développée chez les algues en raison, pour une part, de la composition de la paroi. Quelques résultats ont été obtenus avec les algues Chlorophycées filamenteuses (MARCHANT et FOWKE, 1977; FOWKE et GAMBORG, 1980) et chez *Nitella* (KURODA, 1980), mais dans ce dernier cas, uniquement dans le but d'obtenir des cellules dépourvues de paroi en liaison avec des expériences d'électrophysiologie. Nous cherchons actuellement à mettre au point une méthode permettant d'obtenir les deux catégories cellulaires. Nous avons obtenu des premiers résultats mais la quantité de protoplastes reste encore faible. Nous cherchons à améliorer les conditions techniques et à domestiquer *in vitro* de nouvelles espèces donnant un meilleur rendement.

Dans le même temps, nous essayons de caractériser biochimiquement les deux lignées cellulaires dans le cadre d'une approche des mécanismes de différenciation. La possibilité d'adapter aux Characées les techniques d'électrophorèse offre une première voie en cours d'exploitation. Un premier résultat en électrophorèse bidimensionnelle a mis en évidence l'existence de différences entre

le spectre protéinique de la plante entière et celui des articles internodaux (DUCREUX, non publié). Cette analyse est complétée par des investigations au niveau du noyau. Il s'agit, au moyen de techniques spécifiques fines, de localiser et de caractériser cytochimiquement les principaux constituants nucléaires des différentes catégories cellulaires *in situ* et isolées *in vitro*. Les travaux réalisés sur l'évolution des noyaux aux cours de la spermiogenèse ont mis en évidence des remaniements complexes intéressant les histones et les nucléo-protéines dont l'évolution cytochimique peut être caractérisée, y compris au microscope électronique (ROBERT, 1979). Nous appliquons actuellement ces techniques spécifiques à l'analyse de l'évolution des structures nucléaires aux différentes étapes du fonctionnement de l'apex et à la comparaison des cellules nodales et internodales.

CONCLUSION

Nous avons essayé de montrer l'intérêt des Characées comme modèles expérimentaux dans les études de biologie du développement. On peut en retenir que tout est utilisable, de l'apex aux rhizoïdes, en passant par les organes reproducteurs. De plus, à tout moment on peut faire référence à la cellule et intégrer son fonctionnement dans celui de la plante. Pourtant, nous n'avons évoqué qu'une partie des études conduites chez ces plantes. En amont nous avons déjà signalé leurs intérêts multiples, paléontologiques, paléogéographiques, systématiques, écologiques. En aval, nous avons volontairement laissé de côté tous les travaux, actuellement abondamment développés, concernant la physiologie cellulaire. L'article internodal de par sa grande taille est encore une fois un modèle remarquable pour l'étude des mécanismes cellulaires. Je me bornerai à signaler quelques articles de revues dans ce domaine : contrôle de l'expansion de l'entre-nœud (TAIZ et al., 1981), étude de la cyclose (WILLIAMSON, 1975; SHIMMEN et TAZANA, 1982), étude des transports ioniques dans les membranes (SPANSWICK, 1972; LUCAS, 1976; SHIMMEN et TAZAWA, 1977; ABE et al., 1980; LUCAS, 1982).

Il est important de souligner que l'analyse de ces différents mécanismes aux plans : biochimique, biophysique et moléculaire, pour certains aspects, reste inscrite dans le cadre d'une cellule dont l'ontogenèse, la morphogenèse et la fonction peuvent être parfaitement situées dans la plante. Il s'agit certainement d'un des rares modèles végétaux permettant d'intégrer une démarche de biologie cellulaire pour la compréhension des mécanismes de développement de l'organisme dans son entier.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABE, S., TAKEDA, J. et SENDA M., 1980 — Resting membrane potential of *Nitella expansa* protoplasts. *Plant Cell Physiol.* 21 : 537-546.
- CHADEFAUD, M., 1952 — La leçon des algues. Colloque C.N.R.S., mai 1952, Paris : évolution et phylogénèse chez les végétaux. *Année Biol.* 28 : 9-25.
- CHADEFAUD, M., 1960 — Les végétaux non vasculaires (Cryptogamie). In : M. CHADEFAUD et L. EMBERGER, *Traité de Botanique systématique*. Tome I. Paris : Masson. XV + 1018 p.
- CHADEFAUD, M., 1979 — L'évolution de la structure cladomienne chez les Charales et les Cérariales. *Rev. Algol.* n.s. 14 : 253-273.
- CORILLION, R., 1957 — Les Charophycées de France et d'Europe occidentale. *Bull. Soc. Sci. Bretagne* 32 : 499 p.
- CORILLION, R., 1975 — Flore et végétation du Massif Armoricain : IV : Flore des Charophytes (Characées) du Massif Armoricain et des contrées voisines d'Europe occidentale. Paris : Jouve. 216 p.
- CRAWLEY, J.C.N., 1965 — A cytoplasmic organelle in association with the cell walls of *Chara* and *Nitella* cells. *Nature* 205 : 200-201.
- DELAY, C. et CARPENTIER, S., 1955 — Action de la colchicine sur *Chara vulgaris* L. I. Action sur les filaments spermatogènes. *Rev. Cytol. Biol. Vég.* 34 : 416-467.
- DUCREUX, C., 1968 — Sur l'ultrastructure des apex des bourgeons, principal et axillaire, de *Chara vulgaris* L. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 267 : 163-166.
- DUCREUX, G., 1975 — Corrélations et morphogénèse chez le *Chara vulgaris* L. cultivé *in vitro*. *Rev. gén. Bot.* 82 : 215-357.
- DUCREUX, G., 1977 — Aspects cytologiques de la dynamique de division des cellules du *Chara vulgaris* L. cultivé *in vitro*. *Rev. Cytol. Biol. Vég.* 40 : 47-64.
- DUCREUX, G., 1979 — Fonctionnement de l'apex et ontogénèse; essai d'analyse ultrastructurale chez *Chara vulgaris* L. *Rev. Algol.*, n.s. 14 : 49-62.
- FISCHER, R.A., DAINTY, J. et TYREE, M.T., 1974 — A quantitative investigation of symplasmic transport in *Chara corallina*. I. Ultrastructure of the nodal complex cell walls. *Canad. J. Bot.* 52 : 1209-1214.
- FOWKE, L.C. et GAMBORG, O.L., 1980 — Applications of protoplast to the studies of plant cells. *Int. Rev. Cytol.* 68 : 9-51.
- FORSBERG, C., 1965a — Nutritional studies of *Chara* in axenic cultures. *Physiol. Plant.* 18 : 275-290.
- FORSBERG, C., 1965b — Sterile germination of oospores of *Chara* and seeds of *Najas marina*. *Physiol. Plant.* 18 : 128-137.
- FRANCESCHI, V.R. et LUCAS, W.J., 1980 — Structure and possible function(s) of charasomes complex plasmalemma - cell wall elaborations present in some characean species. *Protoplasma* 104 : 253-271.
- FRANCESCHI, V.R. et LUCAS, W.J., 1981 — The charasome periplasmic space. *Protoplasma* 107 : 269-284.
- GRAMBAST, L., 1974 — Phylogeny of the Charophyta. *Taxon*, 23 : 463-481.
- GRANT, M.C. et PROCTOR, V.W., 1980 — Electrophoretic analysis of genetic variation in the Charophyta. I. Gene duplication via polyploidy. *J. Phycol.* 16 : 109-115.

- GROVES, J. et BULLOCK-WEBSTER, G.R., 1920 — The British charophyta. *Ray. Soc. London*.
- GUERLESQUIN, M., 1967 — Recherches caryotypiques et cytotoxinomiques sur les Charophycées d'Europe occidentale et d'Afrique du Nord. *Bull. Soc. Sci. Bretagne*, 41 : 265 p.
- GUERLESQUIN, M. et NOOR, M.N., 1982 — La méiose et sa place dans le cycle des Charophytes : thèses sur présence et incertitudes. *Cryptogamie : Algologie* 4 : 323-328.
- HOLTON, R.W., 1973 — Electrophoresis and the taxonomy of algae. *Bull. Torrey Bot. Club*, 100 : 297-303.
- KURODA, K., 1980 — Giant protoplasts from *Nitella* cells. *Cell. Biol. Int. Rep.* 4 : 195-199.
- KWIATKOWSKA, M. et MASZEWSKI, J., 1979 — Changes in the content of condensed chromatin during the cell cycle in antheridial filaments of *Chara vulgaris* L. related to D.N.A. synthesis, ³H - actinomycin D binding and R.N.A. polymerase activity. *Protoplasma* 98 : 363-367.
- KWIATKOWSKA, M. et MASZEWSKI, J., 1980 — Ultrastructure of nuclei and nucleole of the cell cycle blocking and prior to mitotic reactivation. *Biol. Cellulaire* 39 : 151-154.
- LIBBERT, E. et JAHNKE, E., 1965 — Untersuchungen über die Apikaldominanz bei *Chara* - arten sowie ihre Beeinflussbarkeit durch Auxin (Indoleessigsäure) und Antiauxin (p. chlorophenoxyisobuttersäure). *Biol. Zentralbl.* 84 : 25-41.
- LUCAS, W.J., 1976 — Plasmalemma transport of HCO₃⁻ and OH⁻ in *Chara corallina*. *J. Exp. Bot.* 27 : 19-31.
- LUCAS, W.J. et FRANCESCI, V.R., 1981 — Characean charasome - complex and plasmalemma vesicle development. *Protoplasma* 107 : 255-267.
- LUCAS, W.J., 1982 — Mechanisms of acquisition of exogenous bicarbonate by internodal cells of *Chara corallina*. *Planta* 156 : 181-192.
- MARCHANT, M.J. et FOWKE, L.C., 1977 — Préparation, culture and regeneration of protoplasts from filamentous green algae. *Canad. J. Bot.* 55 : 3080-3086.
- Mc CRACKEN, M.D., PROCTOR, V.W. et HOTCHKISS, A.T., 1966 — Attempted hybridization between monoecious and dioecious clones of *Chara*. *Amer. J. Bot.* 53 : 937-940.
- MOESTRUP, O., 1970 — The fine structure of mature spermatozooids of *Chara corallina*, with special reference to microtubules and scales. *Planta* 93 : 295-308.
- NAGAI, R., et REBHUN, L.I., 1966 — Cytoplasmic microfilaments in streaming *Nitella* cells. *Aust. J. Biol. Sci.* 20 : 539-551.
- PICKETT-HEAPS, J.D., 1967a — Ultrastructure and differentiation in *Chara* sp. I - Vegetative cells. *Austral. J. Biol. Sci.* 20 : 539-551.
- PICKETT-HEAPS, J.D., 1967b — Ultrastructure and differentiation in *Chara* sp. II - Mitosis. *Austral. J. Biol. Sci.* 20 : 883-894.
- PICKETT-HEAPS, J.D., 1968a — Ultrastructure and differentiation in *Chara* sp. III - Formation of the antheridium. *Austral. J. Biol. Sci.* 21 : 255-274.
- PICKETT-HEAPS, J.D., 1968b — Ultrastructure and differentiation in *Chara* (*fibrosa*). IV - Spermatogenesis. *Austral. J. Biol. Sci.* 21 : 655-690.
- PICKETT-HEAPS, J.D., 1975 — Green Algae, reproduction and evolution in selected genera. *Sinauer association - Sunderland (Mass.)* : 467-512.
- PROCTOR, V.W., 1960 — Dormancy and germination of *Chara* oospores. *News Bull. Phycol. Soc. Amer.* 13 : 64.
- PROCTOR, V.W., 1974 — Permanent emasculation of monoecious Charophyta by exposure to gamma irradiation (Abstract). *J. Phycol.* 10 (Supplement) : 13.

- PROCTOR, V.W., 1975 — The nature of charophytes species. *Phycologia* 14 : 97-113.
- ROBERT, D., 1979 — Localisation cytochimique en microscopie électronique des constituants nucléaires au cours de la spermiogénèse chez le *Chara vulgaris*. *Ann. Sci. Nat., Bot.* 13ème série. 1 : 67-80.
- SANDAN, T., 1955 — Phycological studies on growth and morphogenesis of the isolated plant cell cultured *in vitro*. I - General feature on the growth and morphogenesis of the internodal cell of Characeae. *Bot. Mag. (Tokyo)*. 68 : 273-281.
- SANDAN, T., 1958 — Phycological studies on growth and morphogenesis of the isolated plant cell cultured *in vitro*. V - Artificial control of the morphogenetic polarity. *Bot. Mag. (Tokyo)* : 71 : 187-192.
- SHIMMEN, T. et TAZAWA, M., 1977 — Control of membrane potential and excitability of *Chara* cells with ATP and Mg^{2+} . *J. Membr. Biol.* 37 : 167-192.
- SHIMMEN, T. et TAZAWA, M., 1982 — Cytoplasmic streaming in the cell model of *Nitella*. *Protoplasma* 112 : 101-106.
- SIEVERS, A., 1965 — Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur geotropischen Reaktion. I - Über Besonderheiten im Feinbau der Rhizoide von *Chara foetida*. *Z. Pflanzenphysiol.* 53 : 193-213.
- SIEVERS, A., 1967 — Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur geotropischen Reaktion. II - Die polare Organisation des normal wachsenden Rhizoids von *Chara foetida*. *Protoplasma* 64 : 225-253.
- SIEVERS, A. et SCHRÖTER, K., 1971 — Versuch einer Kausalanalyse der geotropischen Reaktionskett in *Chara*. Rhizoid. *Planta* 96 : 339-353.
- SIEVERS, A. et VOLKMANN, D., 1979 — Gravitropism in single cells. In : *Encyclopedia of plant physiology*, New Series, Vol. 7 (HAUPT, W., FEINLEIB, M.E., eds.) : 567-572. Berlin - Heidelberg - New York : Springer.
- SIEVERS, A. et SCHNEPF, E., 1981 — Morphogenesis and polarity of tubular cells with tip growth. In : *Cytomorphogenesis in plants*, O. Kiermayer Ed. Springer. Verlag. Wien, New York : 265-299.
- SPANSWICK, R.M., 1972 — Evidence for an electrogenic ion pump in *Nitella translucens*. I - The effect of pH, K^+ , Na^+ , light and temperature on the membrane potential and resistance. *Biochim. Biophys. Acta* 288 : 73-89.
- SUNDARALINGAM, V.S., 1960 — Comparative morphology of the Charophytes. *Proceedings of the Symposium of algology*. New Delhi, India : 78-84.
- TAIZ, L., METRAUX, J.P. et RICHMOND, 1981 — Control cell expansion in the *Nitella* internode. In : *Cytomorphogenesis in plants*, O. Kiermayer Ed. Springer. Verlag. Wien, New York : 231-264.
- WILLIAMSON, R.E., 1975 — Cytoplasmic streaming in *Chara* a cell model activated by ATP and inhibited by cytochalasin B. *J. Cell. Sci.* 17 : 655-668.
- WOOD, R.D. et IMAHORI, K., 1964-65 — A revision of the Characeae. I - Monograph of the Characeae, 903 p., II - Iconograph. 395 Pl. *Verlag von J. Cramer*. Ed. Weinheim.